Aus dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
Direktor: Geheimrat Uhlenhuth

Verwendungsstoffwechsel der Typhusbazillen und Ablauf des d'Herelleschen Phänomens in synthetischen Nährböden

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der ärztlichen Doktorwürde,
vorgelegt der Hohen medizinischen Fakultät
der Universität Freiburg im Breisgau
von

EMIL REITHMANN
cand. med.
aus Kaiserslautern

1934

Aus dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
Direktor: Geheimrat Uhlenhuth

Verwendungsstoffwechsel der Typhusbazillen und Ablauf des d'Herelleschen Phänomens in synthetischen Nährböden

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der ärztlichen Doktorwürde,
vorgelegt der Hohen medizinischen Fakultät
der Universität Freiburg im Breisgau
von

EMIL REITHMANN
cand. med.
aus Kaiserslautern

Referent: Prof. W. SEIFFERT

Gedruckt mit Genehmigung
der medizinischen Fakultät der Universität Freiburg i. Breisgau

Meinen Eltern gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543121_0010

Verwendungsstoffwechsel der Typhusbazillen und Ablauf des d'Herelleschen Phänomens in synthetischen Nährböden.

I.

Ein Zusammenhang zwischen dem Bakterienstoffwechsel und dem Ablauf des d'Herelleschen Phänomens wird heute wohl von niemand mehr geleugnet werden. Darüber, wie diese Beziehungen im einzelnen sind, gehen allerdings die Meinungen noch weit auseinander. Während d'Herelle selbst daran festhält, daß lediglich der lebende Zustand des Bakteriums die Voraussetzung für den Eintritt des von ihm als Parasiten aufgefaßten Bakteriophagen ist, haben sehr viele andere Forscher festgestellt, daß ohne Bakterienwachstum keine Lysatvermehrung möglich ist. Um in diese Frage Klarheit zu bringen, wurde von verschiedener Seite untersucht, ob die Bedingungen für ein gutes Wachstum die gleichen seien, wie für eine starke Lysatvermehrung. Eine Verschiedenheit der optimalen Bedingungen für Wachstum und Lysatvermehrung würde beide Vorgänge als mehr oder minder voneinander unabhängige Sonderfunktionen des lebenden Bakterienorganismus kennzeichnen. Die Ergebnisse der einzelnen Forscher weichen nicht unwesentlich voneinander ab. Zwar ist man sich darüber einig, daß eine Lysatvermehrung nur dann eintritt, wenn auch ein Bakterienwachstum stattfindet. So haben vor allem Bordet, Cinca, Gratia und Doerr schon aus ihren Arbeiten den Schluß gezogen, daß Wachstum und Vermehrungsprozesse Vorbedingung für die Auflösung der befallenen Bakterien sind. Jasaki (1) bestätigt ebenfalls diese Ansicht und stellt fest: Sowohl die Wirkung als auch die Neubildung des Lysates erfordern günstige Ernährungsbedingungen. Beide sind offenbar an eine gesteigerte Lebenstätigkeit der befallenen Bakterien eng gebunden. Es erscheint möglich, daß Stoffwechselvorgänge des Bakteriums durch das lytische Agens so beeinflußt werden, daß sie einerseits zur Auflösung der Zelle,

andererseits zur Neubildung des wirksamen Prinzips führen. Jasaki erklärt außerdem: Die auflösende Wirkung des Bakteriophagen tritt bei Lysatzusatz in denselben Medien in Erscheinung, in denen ohne Zusatz von Lysat ein Wachstum der Bakterien (in seinem Falle Dysenteriebazillen) erfolgt. Sie bleibt überall aus, wo kein Wachstum stattfindet.

Geht nun aber die Lysatvermehrung der Bakterienvermehrung direkt parallel? Diese Frage wird nicht einheitlich von allen Forschern beantwortet. Jasaki (1) bejaht sie und kommt zu dem Ergebnis, daß die Neubildung des lytischen Agens dem Wachstum parallel geht. Seiser (2) sagt z. B., Traubenzucker beschleunigt das Wachstum der Bakterien „demgemäß" die Lyse. Doerr (3) vertritt die Auffassung, daß der Bakteriophage wie ein Wuchshormon auf die Bakterien wirke, in kleinen Mengen sie stimuliere, in großen sie zerstöre. Im Gegensatz dazu stehen aber die Ergebnisse der meisten anderen Untersucher, die einwandfrei den Unterschied zwischen Bakterienvermehrung und Lysatvermehrung zeigen. Seiffert (4) erwähnt Flexner, Coli und Typhusstämme, die sich ausgezeichnet vermehrten und im Plattenversuch leicht aufgelöst wurden und trotzdem keine lytische Elemente lieferten. Doerr und Grüninger (5) arbeiteten mit einem Colistamm, der bei Zimmertemperatur erhebliche Agensvermehrung aufwies, dagegen nicht bei 48°, obwohl der Stamm bei dieser Temperatur recht gut gedieh. Prausnitz und Firle (6) fanden spärliche Vermehrung der Flexnerbazillen, bei außerordentlich starker Agensvermehrung. Otto und Winkler (7), Gradia (8), Scheidegger (9) und andere konnten durch Verschiebung der Wasserstoffionenkonzentration die Entstehung lytischer Agentien bei bestehender Bakterienvermehrung hintanhalten. Auch aus der Opitz'schen (10) Arbeit geht hervor, daß Beeinflussungen des Wachstums keine entsprechende Beeinflussung der Lysatbildung zur Folge haben muß. All diese Befunde zeigen eindeutig, daß die Lysatbildung zwar Bakterienwachstum zur Voraussetzung hat, ihm aber nicht parallel geht. Dieser Schluß wird am klarsten bewiesen durch Zusatz von Desinfizientien. d'Herelle (11) und Brutsaert (12) fanden in einem flurnatriumhaltigen Nährboden Bakterienwachstum ohne Agensvermehrung. Seiffert (13) teilt Versuche mit, in denen Karbolsäure das Wachstum der Bakterien stärker hemmte als Lythiumchlorid, Lithiumchlorid jedoch die Agensvermehrung intensiver herabsetzte als Karbolsäure.

Es fragt sich, ob sich ähnliche Divergenzen nicht lediglich vom Nährsubstrat erzielen ließen. Auch in dieser Hinsicht sind die Angaben der Literatur widersprechend. Während manche Arbeiten den Anschein erwecken, als ob Nährböden, die ein gutes Wachstum ermöglichen auch eine entsprechende Lysatvermehrung garantieren, sprechen doch die meisten anderen dafür, daß beide Vorgänge nicht absolut gleichlaufend sind. d'Herelle (14) teilt mit, daß er reichliche Agensvermehrung von einem Ruhrbazillenstamm in einem eiweißfreien Nährboden hatte. Ebenso beobachtete Jasaki (1) Agensvermehrung in Versuchen mit Dysenteriebazillen in einem traubenzuckerhaltigen Tryptophannährboden. Gildemeister und Herzberg (15) hatten einen Colistamm, der spontan Lysin bildete und diese spontane Lysinbildung auch in eiweißfreien Nährböden beibehielt. Okamoto (16) dagegen hat Versuche angestellt mit eiweißfreien Nährböden, bei denen trotz guten bakteriellen Wachstums die Vermehrung der lytischen Agentien ausblieb. Durch Einschränkung des Eiweißverbrauches wurde bei anderen Versuchen unter gewissen Bedingungen auch die Agensvermehrung verhindert. Über ähnliche Resultate mit eiweißfreien Nährböden berichten Maitland (17) und Lepper (18).

Seiffert (19) suchte die widersprechenden Angaben der Literatur in seinen ausführlichen Arbeiten der letzten Zeit durch Vernachlässigung der quantitativen Verhältnisse zu erklären und verlangt genaues und quantitatives Arbeiten. Seine systematische Durchuntersuchung der verschiedenen Kohlenstoff- und Stickstoffquellen in Bezug auf Wachstum und Lysatvermehrung mit Paratyphus-B Schottmüller führten zu folgendem Ergebnis:

1. Eine Vermehrung der d'Herelleschen Lysine ist bei der Paratyphus-B-Kultur mit der Vermehrung der Bakterien selbst durchaus nicht ohne weiteres gegeben; sie tritt vielmehr nur bei bestimmten Nährstoffen auf.

2. Ist Ammonium die N-Quelle, so bleibt trotz stattgehabter Keimentwicklung die Lysinproduktion aus, wenn Milchsäure, Propionsäure, Brenztraubensäure, Oxalsäure, Malonsäure, Bernsteinsäure, Glutarsäure, l-Weinsäure und Zitronensäure C-Spender sind; sie tritt ein bei Zusatz von Fumarsäure, Glyzerin, Mannit, Glukose, Galaktose und Maltose.

3. Ist Glykokoll N-Quelle (das ebenso wie Ammoniak nur bei Zusatz einer geeigneten Kohlenstoffverbindung Wachstum

gestattet), so bleibt ebenfalls bei bestimmten C-Quellen die Agensvermehrung regelmäßig aus. Bei anderen kann sie dagegen erfolgen, allerdings nicht so regelmäßig wie bei den Ammoniumverbindungen. Für beide N-Quellen scheinen die gleichen C-Quellen tauglich, beziehungsweise untauglich zu sein.

4. Ist eine andere ein- oder zweibasische gesättigte Aminosäure oder eines ihrer Derivate N-Quelle, so bleibt trotz stattgehabter Keimentwicklung die Agensvermehrung aus, gleichviel welche C-Quelle hinzugefügt wird. Ähnlich verhalten sich bisher Verbindungen mit heterozyklisch gebundenem Stickstoff.

5. Ist Tyrosin N-Quelle, so ist zwar ähnlich wie bei Ammonium und Glykokoll das Wachstum der Keime an die Gegenwart einer besonderen C-Verbindung gebunden. Die Agensvermehrung bleibt — entsprechend der Ableitung des Tyrosins vom Alanin — bei jeder Kombination aus.

Mir wurde nun die Aufgabe zuteil, diese Ergebnisse bezüglich Wachstum und Lysatvermehrung in entsprechender Weise für Typhus zu prüfen.

II.

Der betreffende Typhusstamm wurde aus einer Reihe Laboratoriumsstämme ausgesucht. Er agglutinierte noch 1:3200 stark positiv, verfärbte Lackmusnährboden nach zehn Stunden blau, während Neutralrot agar und Milch unverändert blieben. Unter den zur Auswahl stehenden Stämmen zeigte dieser die stärkste Agensbildung.

Der Typhusbakteriophage wurde von Herrn Professor Müller, Köln, freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

Wie sich aus einem Vorversuch ergab, lieferte unser Stamm in Nährbouillon mit Lysinen versetzt binnen 7 bis 10 Stunden ein Lysat, dessen Titer 1^{-6} betrug. Außerdem zeigte es sich, daß der Zeitpunkt, zu dem ein mit Bakterien beimpftes und mit Lysat beschicktes Bouillonröhrchen schon reichlich Lysatvermehrung aufwies, aber noch keine Entwicklung lysoresistenter Keime stattgefunden hatte, ungefähr bei zwölf Stunden lag.

Die zu den zahlreichen Versuchen notwendige Menge Lysats wurde so hergestellt, daß auf Agarplatten Flatterformen gezüchtet wurden, die mit Kochsalzlösung abgeschwemmt und filtriert

wurden. Dabei sollte vermieden werden, daß größere Eiweißmengen in das Lysat überschleppt werden. Das so gewonnene Lysat wirkte noch in einer Verdünnung 10^{-6}.

Die zur Beurteilung der Agensvermehrung angewandte Technik schloß sich eng an die von Seiffert (19) in seiner Arbeit beschriebene an. Die Ausspatelung erfolgte nach der Appelmannschen Methode. Je zwei Röhrchen wurden mit Lysat in der Verdünnung 1:1000 und 1:10000 beschickt und mit 0,1 ccm Bakterienaufschwemmung beimpft. Von diesen Röhrchen aus wurde sofort, nach zehn Stunden und nach 24 Stunden auf Agarplatten ausgespatelt und nach Bebrütung die entstehenden „taches vierges" als Maß für die Agensvermehrung ausgezählt. Außerdem wurden von diesen Grundröhrchen aus sofort, nach zehn Stunden und nach 24 Stunden Kochsalzverdünnungen von 1:100, 1:1000 usw. bis 1:100000000000 hergestellt. Von diesen Verdünnungen wurde immer 0,1 ccm in ein Bouillonröhrchen übertragen und 0,1 ccm Bakterienaufschwemmung zugesetzt und zwölf Stunden bebrütet. Danach wurde auch von diesen Bouillonröhrchen aus auf Agarplatten ausgespatelt und auf diesen wieder die „taches vierges" ausgezählt, bezw. der Grad der eingetretenen Lyse festgestellt. Da jeder Versuch doppelt angelegt wurde und außerdem mit zwei Lysatausgangsverdünnungen 1:1000 und 1:10000 gearbeitet wurde, bestanden jeweils vier Kontrollen.

Die Fehlerquellen infolge Ungenauigkeit der Auswertungsmethode selbst, unerwünschten Beimengungen der im Lysat enthaltenen organischen Nährstoffe und der Variabilität der Bakterien wurden selbstverständlich in gleicher Weise mit in Rechnung gezogen wie bei der Arbeit von Seiffert.

In Anbetracht der bakteriellen Variabilität, die bekanntlich im Verwendungsstoffwechsel eine große Rolle spielt, bestand meine erste Aufgabe in der Prüfung des Wachstums meines Typhusstammes in synthetischen Nährböden.

Die diesbezüglichen Angaben der Literatur sind lückenhaft und zum Teil widersprechend. Die meisten Untersuchungen über Bakterienstoffwechsel auf synthetischen Nährböden befaßten sich mit der Ernährungsphysiologie nicht pathogener Mikroorganismen. Wo solche mit pathogenen Bakterien angestellt wurden, geschah dies hauptsächlich aus differentialdiagnostischem Interesse. Vereinzelte Versuche sind auch mit Typhusbazillen vorgenommen worden. So empfahl Fischer (20)

schon frühzeitig einen Asparaginnährboden zur Differenzierung von B. typhi und B. coli. Van Loghem (21) hatte Typhusstämme, die in weinsaurem Ammonium plus Glyzerin prächtig wuchsen. Capaldi und Proskauer (22) stellten fest, daß bei 0,2% Mannit als C-Quelle Asparagin, Luceinamid, Tyrosin, Creatin, Glykokoll und Harnstoff als N-Quelle für Typhus ungenügend seien. Paladino-Blandini (23) kamen zum gleichen Ergebnis bezüglich Asparagin. Kisch (24) fand dagegen, daß Kaliumnitrat in höheren Konzentrationen als Gift wirkt, in niederen dagegen assimilatorisch verwendbar ist. Ebenso hatte er Wachstum mit Ammonium lacticum und starkes Wachstum mit Asparagin. Pesch (25) prüfte die Angaben von Kisch nach und variierte dabei gleichzeitig die N-Quellen. Er hatte kein Wachstum zu verzeichnen, auch nicht für Ammonsulfat und Kaliumtartrat oder Natriumcitratzusatz. G. Wagner (26) teilt mit, daß bei einer geeigneten N-Quelle Ameisensäure, Brenztraubensäure, Glyzerin und Weinsäure als C-Quelle für Typhus brauchbar sind. Aber erst die Arbeiten von H. Braun (27) und seinen Mitarbeitern versuchten richtunggebend den Verwendungsstoffwechsel zahlreicher pathogener Bakterien zu ergründen. Sie haben mit ihrem Ammoniak nicht assimilierenden Typhusstamm in keinem der untersuchten Nährböden, die hergestellt waren aus Glykokoll, Alanin, Leucin, Asparaginsäure und Tyrosin allein und in Kombination mit Milchsäure oder Milchsäure plus Traubenzucker Bakterienwachstum erzielen können. Lediglich Tryptophan mit Milchsäurezusatz bezw. Tryptophan plus Milchsäure plus Traubenzucker gestattete dies. Besondere Beispiele über systematische Untersuchungen des Verwendungsstoffwechsels Ammoniak nicht assimilierender Typhusstämme sind mir in der Literatur nicht bekannt geworden.

Nun zu den Wachstumsversuchen selbst. Sie wurden ausgeführt nach der von Braun angegebenen Anordnung und zwar derart, daß von einem mit 0,1 ccm einer bestimmten verdünnten Bakterienaufschwemmung beimpften Röhrchen eines in Mengen von 5 ccm abgefüllten Nährbodens, je drei weitere Passagen durchgeführt wurden und dann von dem letzten durch Wachstum getrübten Röhrchen aus auf eine Endoplatte überimpft wurde, um eine eventuelle Verunreinigung erkennen zu können. Die Versuche wurden alle doppelt angelegt und bei nicht eindeutigem Ausfall wiederholt. Um den nötigen Sauerstoff für das Wachstum zu gewährleisten, wurde die Oberfläche des Nähr-

bodens durch Schrägstellen der Röhrchen vergrößert. Da aus ammoniakhaltigen Nährböden stets Ammoniak in die Luft übergeht und von hier aus andere Kulturen nicht unwesentlich beeinträchtigen kann, wurden die ammoniakhaltigen und die ammoniakfreien Nährböden in zwei verschiedenen Brutschränken getrennt gehalten.

Die Beurteilung des Wachstums erfolgte durch Abschätzung der Trübung an Hand einer Mastixstandardlösung, die auf das Durchschnittswachstum in asparaginhaltiger Nährlösung eingestellt war (++). Schwächere Trübungen wurden mit +, sehr schwache aber noch deutliche Trübung mit ±, stärkere Trübung mit +++ bezeichnet.

Das Ziel dieser Wachstumsversuche sollte sein festzustellen, welche Kohlenstoff- und welche Stickstoffquellen bezw. welche Kombinationen beider notwendig sind, um den Typhusbakterien dauernd die normalen Lebensfunktionen zu sichern. Zu diesem Zweck wurden zunächst die C-Quellen variiert bei gleichbleibender N-Quelle. Der Stickstoff wurde in Form einer 0,5 prozentigen Ammoniumchlorid-Lösung mit einem Zusatz von 0,2% Kaliumbiphosphat und 0,5% Na Cl zugeführt. Die Lösung der als C-Quelle dienenden Stoffe wurde für sich mit Na_2CO_3 so eingestellt, daß die fertigen Nährböden eine Wasserstoffionenkonzentration von pH 7,4 aufwiesen. Rücktitrationen wurden vermieden, jedes zuviel Alkali ausgeschaltet. Die Nährsubstrate wurden zu je 5 ccm abgefüllt in Röhrchen und dann noch einmal eine halbe Stunde lang in den Dampftopf gebracht. Die verschiedenen C-Quellen wurden in einer Konzentration von 0,2% dem stickstoffhaltigen Nährboden zugefügt.

Die Versuche wurden mit folgenden C-Quellen angestellt:

1. Monokarbonsäuren: Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Valeriansäure, Methyl. formic.
2. Einbasische Oxysäuren: Glykokollsäure, Milchsäure.
3. Ketonsäure: Brenztraubensäure.
4. Gesättigte zweibasische Säuren: Oxalsäure, Malonsäure, Bernsteinsäure, Glutarsäure.
5. Mehrbasische Oxy- bezw. Ketonsäuren: Apfelsäure, l-Weinsäure, Zitronensäure.
6. Ungesättigte zweibasische Säuren: Fumarsäure, Maleinsäure.
7. Mehrwertige Alkohole: Glyzerin, Mannit, Dulzit.
8. Zucker: Arabinose, Glukose, Galaktose und Maltose.

Die Wachstumsversuche haben zu Ergebnissen geführt, die in nachfolgender Tabelle zusammengefaßt sind.

C-Quelle:	N-Quelle: NH_4Cl. Wachstum	Lysinbildung
I. Monokarbonsäuren:		
Essigsäure	−	
Propionsäure	−	
Valeriansäure	−	
II. Einbasische Oxysäuren:		
Glykolsäure	−	
Milchsäure	+	+++
III. Ketonsäuren:		
Brenztraubensäure	±	+++
IV. Gesättigte zweibasische Säuren:		
Oxalsäure	−	
Malonsäure	−	
Bernsteinsäure	−	
Glutarsäure	−	
V. Mehrbasische Oxy- u. Ketonsäuren:		
Weinsäure	−	
Zitronensäure	−	
Apfelsäure	−	
VI. Ungesättigte zweibasische Säuren:		
Fumarsäure	−	
Maleinsäure	−	
VII. Mehrwertige Alkohole:		
Glyzerin	±	+++
Mannit	−	
Dulzit	−	
VIII. Zucker:		
Arabinose	+	
Glukose	+	
Galaktose	+	−
Maltose	+	+

Bei der Betrachtung der Tabelle fällt sofort eines auf: In Verbindung mit gewissen C-Quellen genügt Ammoniumchlorid als alleinige Stickstoffquelle. Damit ist von vornherein klar, daß der verwendete Typhusstamm einer jener wenigen Ammoniak assimilierenden Stämme ist, von denen schon I. van Loghem (21) berichtet. Er hatte unter elf Laboratoriumsstämmen drei

gefunden, die in der Lage waren aus Ammoniak als alleiniger Stickstoffquelle ihr Körpereiweiß aufzubauen. Um einen derartigen Stamm handelt es sich augenscheinlich auch hier.

Bei einem Vergleich mit den Wachstumsergebnissen Seifferts (19) mit Paratyphus zeigt sich deutlich, daß der Typhusstamm doch weit anspruchsvoller ist, als Paratyphus. Während bei Paratyphus bei Ammoniumchlorid als N-Quelle zwar Essigsäure nicht, aber Propionsäure und Valeriansäure zum Wachstum genügten, wuchs der Typhusstamm mit keiner der Monokarbonsäuren. Übereinstimmend mit Paratyphus war ein Wachstum mit Glykolsäure nicht zu erzielen, während dagegen von den einbasischen Oxysäuren die Milchsäure ausreichte. Die ketonsaure Brenztraubensäure ermöglichte das Wachstum von Typhus und Paratyphus. Dagegen war für Typhus weder mit den zweibasischen gesättigten und ungesättigten noch mit den mehrbasischen Oxysäuren ein Wachstum zu erzielen, während bei Paratyphus dies überall mehr oder minder stark der Fall war. Von den mehrwertigen Alkoholen zeigte Typhus nur mit Glyzerin gutes Wachstum, während Paratyphus auch mit Mannit und Dulzit wuchs. Bei den Zuckern waren die Ergebnisse für Typhus wechselnd. Einmal waren bei allen Arabinose, Glukose, Galaktose und Maltose recht deutliche Trübungen durch alle Passagen zu beobachten. Bei Wiederholungen rissen aber die Passagen teilweise ab. Paratyphus hingegen war mit allen Zuckern gewachsen.

Für die Auswertungsversuche über die Lysinvermehrung kamen nur die Nährböden in Betracht, die zuvor ein gutes Wachstum ermöglicht haben, da, wie oben erwähnt, die Feststellung zahlreicher Autoren allgemein anerkannt ist, daß der Ablauf des d'Herelleschen Phänomens nur in Nährböden möglich ist, in denen ohne Lysatzusatz Bakterienwachstum erzielt werden kann.

Es zeigt sich für Typhus, daß bei Ammoniumchlorid als N-Quelle überall starke Agensvermehrung zu verzeichnen war, wo zuvor auch ein üppiges Bakterienwachstum stattgefunden hatte. Unregelmäßigkeiten wiesen lediglich wieder die Zucker Arabinose, Glukose, Galaktose und Maltose auf, bei denen genau wie bei den Wachstumsversuchen Schwankungen im Ergebnis der Auswertungsversuche bei Wiederholungen festzustellen waren. Teils zeigten sie bei der Auswertung Lysatvermehrung bis zum letzten Röhrchen, teils traten schon bei der Ausspate-

lung des zweiten und dritten Röhrchens keine „taches vierges“ mehr auf.

Interessant ist auch hier wieder der Vergleich mit den Paratyphusversuchen von Seiffert. Dort waren eine ganze Reihe C-Quellen vorhanden, die trotz guten Wachstums keine nennenswerte Agensvermehrung aufwiesen. Das war der Fall bei der Propionsäure, Valeriansäure, Milchsäure, Brenztraubensäure, bei sämtlichen zweibasischen Oxysäuren, bei der l-Weinsäure und vielleicht bei der Zitronensäure. Merkwürdig ist ferner, daß für Typhus eine Agensvermehrung auftrat, wo dies für Paratyphus nicht der Fall war, nämlich bei Milchsäure, Brenztraubensäure, während Glyzerin sowohl für Typhus wie für Paratyphus bei dem Auswertungsversuch die gleichen positiven Resultate lieferte. Erwähnt sei noch, daß die Fumarsäure, die bei den Seiffertschen Versuchen mit Paratyphus am einwandfreiesten eine Agensvermehrung ermöglichte, bei Typhus überhaupt kein Wachstum zuließ.

III.

In der zweiten Versuchsreihe wurden die N-Quellen verändert. Als C-Quellen wurden dabei solche verwendet, die bei der ersten Versuchsreihe mit Ammoniumchlorid sich schon als assimilatorisch brauchbar erwiesen hatten. Es war dies vor allem Glyzerin und Natriumlaktat. Gelegentlich wurden auch Stichproben mit weiteren C-Quellen gemacht z. B. Fumarsäure, Brenztraubensäure, Traubenzucker, Mannit, Galaktose und Zitronensäure.

Als N-Quellen fanden Verwendung:

1. Einbasische Amino- bezw. Aminooxysäuren: Glykokoll, Sarkosin (Derivat der Essigsäure), Alanin-α, d-l-Alanin-α, Alanin-β, d-Isoleucin, Tyrosin, Histidin (sämtlich Derivate der Propionsäure), Ornithin, Arginin (Derivate der Valeriansäure).
2. Zweibasische Aminosäuren: Asparaginsäure (Aminobernsteinsäure) und ihr Monoamid Asparagin, Glutaminsäure (Aminoglutarsäure).

2a. Säureamide: Harnstoff, Guanidin. carb., Guanidin. hydrochlor.

3. Homozyklisch gebundener Stickstoff: Histidin (ein Imidazol) l-Oxyprolin (ein Derivat des Pyrolidins).

Die Ergebnisse der Versuche sind in folgender Tabelle enthalten:

N-Quelle:	allein		C-Quelle Nalaktat		C-Quelle Glyzerin	
	Wachstum	Lysinbildung	Wachstum	Lysinbildung	Wachstum	Lysinbildung
I. Einbasische Amino- u. Aminooxysäuren:						
Glykokoll	+	−	+	+++	+	+++
Sarkosin	−		−		−	
Alanin α	+	−	+	−	+	
d'l-Alanin α	+	−	+	−	+	
Alanin β	−		−		−	
d-Isoleucin	+	+++	+	+++	+	+++
Tyrosin	−		−		−	
Histidin	−		−		−	
l-Leucin	+	+++	+	+++	+	+++
Leucin synth.	−		−		−	
Ornithin						
Arginin	−		+	+++	+	
II. Zweibasische Aminosäuren:						
Na-asparagin	+	−	+	+++	+	+++
Asparagin	+	+++	+	+++	+	+++
Glutaminsäure	+	+++	+	+++	+	+++
Cystin	+	−	+	−	+	
IIa. Säureamide:						
Harnstoff	−		−		−	
Guanidin. carb.	−		−		−	
Guanidin. hydrochl.	−		−		−	
III. Homozyklische Aminosäuren:						
Tyrosin	−	−	−		−	
IV. Heterozyklische Aminosäuren:						
Histidin	−		−		−	
l-Oxyprolin	±	+++	+	+++	+	

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, sind auch hier die von Seiffert für Paratyphus aufgestellten drei Gruppen zu erkennen, wobei aber die Repräsentanten der einzelnen Gruppen bei Typhus und bei Paratyphus nicht unwesentlich von einander abweichen.

1. Solche Substanzen, die weder allein, noch mit Zusatz verschiedener C-Quellen ein Wachstum ermöglichen. Dazu gehören: Sarkosin, Alanin-β, Tyrosin, Histidin, Leucin synth., Harnstoff, Guanid. carb. und Guanid. hydrochlor.

2. Die zweite Gruppe weist allein auch kein Wachstum auf, dagegen bei Zusatz brauchbarer C-Quellen: z. B. Arginin und Oxyprolin.

3. In der dritten Gruppe sind alle die N-Quellen zu finden, die ohne Zusatz irgend einer weiteren Nährsubstanz (außer Salzen) schon für sich allein Wachstum gestatten: Glykokoll, Alanin-α, d'l-Alanin-α, d-Isoleucin, l-Leucin, Na-asparagin., Asparagin, Glutaminsäure, Cystin.

Mit der ersten Gruppe, die überhaupt kein Wachstum aufwies, brauchten nach dem früher Gesagten gar keine Lysinauswertungsversuche angestellt werden. Von der zweiten Gruppe ist bei l-Oxyprolin allein auch Lysinproduktion nachweisbar.

Am bedeutsamsten erscheinen die Auswertungsversuche mit der dritten und größten Gruppe. Hier gibt es beträchtliche Verschiedenheiten innerhalb der gleichen Gruppe und außerordentliche Abweichungen im Vergleich mit der gleichen Gruppe der Versuche mit Paratyphus von Seiffert. Zunächst konnte mit Alanin α, d'l-Alanin α und Cystin weder allein noch durch Hinzufügen einer weiteren C-Quelle eine Agensvermehrung erzielt werden. Dann waren bei Glykokoll und Na-asparagin. allein, obwohl sie Bakterienwachstum aufwiesen, auch bei Wiederholungen keine Agensvermehrungen zu erkennen. Dagegen trat sofort eine starke Lysarproduktion bei Zusatz von Na-Laktat oder Glyzerin ein. Die restlichen Substanzen dieser Gruppe gestatteten sowohl allein, als auch mit verschiedenen C-Quellen reichliche Lysinvermehrung. Zu diesen gehören: d-Isoleucin, l-Leucin, Asparagin und Glutaminsäure.

Diese dritte Gruppe umfaßt also eine beträchtliche Anzahl von Stickstoffquellen, die großenteils entweder für sich allein, oder mit Zusatz weiterer C-Quellen Lysinproduktion einwandfrei ermöglichten. Bei den Paratyphusversuchen Seifferts war dies bei den in der dritten Gruppe zusammengefaßten Nährböden bei keinem der Fall.

Nach dem Gesagten ist somit folgendes festzustellen:

Die Folgerungen, die Seiffert aus seinen Versuchen mit Paratyphus gezogen hat, werden durch die Ergebnisse mit Typhus erhärtet. Wie die Beispiele Glykokoll, Alanin α, d'l-Alanin α,

Na-asparagin. und Cystin zeigen, gibt es tatsächlich synthetische Nährböden, die ein gutes Bakterienwachstum gestatten, ohne daß gleichzeitig eine Lysatvermehrung stattfindet. Damit ist die Lysinbildung als eine Sonderfunktion des Bakteriums, die nicht dem Wachstum parallel geht, gekennzeichnet.

Auch in dem zweiten Punkte lassen sich die Seiffertschen Angaben bestätigen. Bei manchen Nährböden, die für sich allein nur Wachstum aber keine Lysinbildung gestatten, tritt bei Zusatz bestimmter C-Quellen Lysinbildung ein. Daraus geht hervor, daß der C-Stoffwechsel für die Lysinbildung von ausschlaggebender Bedeutung ist.

Besonders betont werden muß das dritte Ergebnis, das aus meinen Untersuchungen im Vergleich mit denen von Seiffert gezogen werden kann. Die Stickstoff- und die Kohlenstoffquellen, die zur Agensbildung notwendig sind, decken sich bei der Bakteriophagie der Typhusbazillen nicht mit den zur Bakteriophagie bei Paratyphusbazillen erforderlichen Nährsubstraten.

Für denjenigen, der die Bakteriophagie als rein bakteriellen Prozeß auffaßt, erscheint es selbstverständlich, daß in Anbetracht der großen Stoffwechselverschiedenheiten, die wir bei den verschiedenen Bakterienarten finden, auch die Agensvermehrung von verschiedenartigen Faktoren abhängig ist. Ob man dagegen im Rahmen der Vorstellung der Bakteriophagie als eines belebten Wesens, so weitgehende Differenzen im Stoffwechsel eines Typhusbakteriophagen und eines Paratyphusbakteriophagen für wahrscheinlich halten kann, mag dahingestellt bleiben.

Zusammenfassung.

1. Es wurde die Vermehrung des d'Herelleschen Lysins auf Typhusbazillen in verschiedenen Nährsubstraten untersucht. Verwendet wurde ein Stamm des Bazillus typhi, der auch Ammoniak zu assimilieren vermochte.

2. Im Wachstumsversuch wurden folgende C-Quellen in der Kombination mit Ammoniak als geeignet befunden: Milchsäure, Brenztraubensäure, Glyzerin oder einer der Zucker Arabinose, Glukose, Galaktose oder Maltose. Diese C-Quellen reichten mit Ausnahme der Zucker auch zur Agensbildung aus.

3. Unter den N-Quellen genügten für sich allein zum Wachstum: Glykokoll, Alanin α, d'l-Alanin α, d-Isoleucin, l-Leucin, Na-asparagin., Asparagin, Glutaminsäure, l-Oxyprolin. Davon genügten für sich allein zur Agensbildung d-Isoleucin, l-Leucin, Asparagin, Glutaminsäure und l-Oxyprolin. Bei Glykokoll, Arginin, Na-asparagin. war der Zusatz einer besonderen C-Quelle erforderlich.

4. Die Vermehrung der d'Herelleschen Lysine auf Typhusbazillen erfolgte demnach unter anderen Stoffwechselbedingungen, als die Vermehrung auf Paratyphus.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Geheimrat Uhlenhuth und Herrn Professor Dr. W. Seiffert für das freundliche Interesse, das sie meiner Arbeit geschenkt haben, recht herzlich zu danken.

Beispiel eines Auswertungsprotokolls.

Nährboden: l-Leucin + Salze.

Spontan Lysinbildung: −. Wachstum: +/++.

Röhrchen I: Zusatz von 0,1 ccm Lysin 10^{-3}.

Prüfung auf Lysosensibilität (nach 24 Stunden): +++.

Auswertung durch Ausspatelung:

	Wachstum	Lysin
sofort	schwach	2 Löcher
nach 10 Stunden	Flatterformen	+++
nach 24 Stunden	Flatterformen	+++

Auswertung nach Appelmans:

Verdünnung	sofort Wachstum	sofort Lysin	nach 10 Stunden Wachstum	nach 10 Stunden Lysin
10^{-2}	Flatterformen	+++	Flatterformen	+++
10^{-3}	Flatterformen	+++	„	+++
10^{-4}	Dichter Rasen	−	„	+++
10^{-5}	Dichter Rasen	−	„	+++
10^{-6}	Dichter Rasen	−	„	+++
10^{-7}			„	+++
10^{-8}			„	+++
10^{-9}			„	+++
10^{-10}			„	+++
10^{-11}			„	+++

Röhrchen II: Zusatz von 0,1 ccm Lysin 10^{-3}.
Prüfung auf Lysosensibilität (nach 24 Stunden): +++.

Auswertung durch Ausspatelung:

	Wachstum	Lysin
sofort	schwach	5 Löcher
nach 10 Stunden	Flatterformen	+++
nach 24 Stunden	Flatterformen	+++

Auswertung nach Appelmans:

Verdünnung	sofort Wachstum	Lysin	nach 24 Stunden Wachstum	Lysin
10^{-2}	Flatterformen	+++	Flatterformen	+++
10^{-3}	Gut	++	„	+++
10^{-4}	Dichter Rasen	—	„	+++
10^{-5}	Dichter Rasen	—	„	+++
10^{-6}	Dichter Rasen	—	„	+++
10^{-7}			„	+++
10^{-8}			„	+++
10^{-9}			„	+++
10^{-10}			„	+++
10^{-11}			„	+++

Röhrchen III: Zusatz von 0,1 ccm Lysin 10^{-4}.
Prüfung auf Lysosensibilität (nach 24 Stunden): +++.

Auswertung durch Ausspatelung:

	Wachstum	Lysin
sofort	Gut	2 Löcher
nach 10 Stunden	Flatterformen	++
nach 24 Stunden	Flatterformen	+++

Auswertung nach Appelmans:

Verdünnung	sofort Wachstum	Lysin	nach 24 Stunden Wachstum	Lysin
10^{-2}	Flatterformen	+++	Flatterformen	+++
10^{-3}	Dichter Rasen	—	„	+++
10^{-4}	„ „	—	„	+++
10^{-5}	„ „	—	„	+++
10^{-6}	„ „	—	„	+++
10^{-7}			„	+++
10^{-8}			„	+++
10^{-9}			„	+++
10^{-10}			„	+++
10^{-11}			„	+++

Röhrchen IV: Zusatz von 0,1 ccm Lysin 10^{-4}.
Prüfung auf Lysosensibilität (nach 24 Stunden): +++.

Auswertung durch Ausspatelung:

	Wachstum	Lysin
sofort	schwach	1 Loch
nach 10 Stunden	Flatterformen	++
nach 24 Stunden	Flatterformen	+++

Auswertung nach Appelmans:

Verdünnung	sofort Wachstum	sofort Lysin	nach 24 Stunden Wachstum	nach 24 Stunden Lysin
10^{-2}	Flatterformen	+++	Flatterformen	+++
10^{-3}	Dichter Rasen	+++	„	+++
10^{-4}	„ „	—	„	+++
10^{-5}	„ „	—	„	+++
10^{-6}	„ „	—	„	+++
10^{-7}			„	+++
10^{-8}			„	+++
10^{-9}			„	+++
10^{-10}			„	+++
10^{-11}			„	+++

LITERATURVERZEICHNIS.

1.	Jasaki	Zeitschr. f. Hyg., Bd. 102
2.	Seiser	Arch. f. Hyg., Bd. 92
3.	Doerr	Klin. Wochenschrift 1922
4.	Seiffert	Zeitschr. f. Hyg., Bd. 98
5.	Doerr u. Grüninger	Zeitschr. f. Hyg., Bd. 97
6.	Praußnitz u. Firle	Centr. f. Bakt., Org. Bd. 93
7.	Otto u. Winkler	Deutsche Med. Wochenschr. 1922
8.	Gradia	Journ. of exp. Med., vol. 34
9.	Scheidegger	Zeitschr. f. Hyg., Bd. 99
10.	Opitz	Dissertation Freiburg 1934
11.	d'Herelle	C. r. Soc. Biol. 1923
12.	Brutsaert	C. r. Soc. Biol. T 89
13.	Seiffert	Zeitschr. f. Imm., Bd. 38
14.	d'Herelle	Le Baktériophage, Paris 1921
15.	Gildemeister u. Herzberg	Centr. f. Bakt., Org. 1924, Beiheft
16.	Okamoto	Zeitsch. f. Immun. Forschg., Bd. 42
17.	Maitland	Brit. Journ. of exp. Path. 1922
18.	Lepper	Brit. Journ. of exp. Path. 1924
19.	Seiffert	Centr. f. Bakt., Org. Bd. 127, Beiheft
20.	Fischer	Vorles. über Bakt., Jena (G. Fischer) 1903
21.	van Loghem	Centr. f. Bakt., Org. Bd. 57
22.	Capaldi u. Proskauer	Zeitschr. f. Hyg., Bd. 23
23.	Paladino-Blandini	Contributo alle conoscense sui paratyphi (Ann. d'ig. 1905)
24.	Kisch	Centr. f. Bakt., Org. Bd. 82
25.	Pesch	Centr. f. Bakt., Bd. 86
26.	G. Wagner	Zeitschr. f. Hyg., Bd. 90
27.	H. Braun	Centr. f. Bakt., Bd. 86

Außer den oben angeführten Quellen wurden keine weiteren Hilfsmittel benützt.

LEBENSLAUF.

Ich wurde am 20. September 1908 in Kaiserslautern (Pfalz) als Sohn des Abteilungsleiters Emil Reithmann geboren. Zu Ostern 1928 bestand ich die Reifeprüfung an der Oberrealschule Kaiserslautern.

Mein Studium der Medizin begann ich im Sommersemester 1928 in Heidelberg. Dort legte ich am 30. Oktober 1930 die ärztliche Vorprüfung ab. Das erste klinische Semester blieb ich noch in Heidelberg. Dann studierte ich in Rostock, Berlin je ein Semester, um in Freiburg i. Br. mein Studium zu Ende zu führen. In Freiburg i. Br. bestand ich am 8. Februar 1934 das medizinische Staatsexamen.